This Page Is Inserted by IFW Operations and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents will not correct images, please do not report the images to the Image Problems Mailbox.

PAGE BLANK (USPTO)

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Buro INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5:

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 90/09191

A61K 37/64, C07K 5/02, 7/02

A1

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

23. August 1990 (23.08.90)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP90/00219

(22) Internationales Anmeldedatum: 9. Februar 1990 (09.02.90)

(30) Prioritätsdaten:

P 39 04 040.2

10. Februar 1989 (10.02.89) DE päisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), IP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Paten

sches Patent), US.

(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (euro-

päisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent),

(71)(72) Anmelder und Erfinder: SCHRAMM, Wolfgang [DE/ DE]; Medizinische Kliniken Innenstadt der Universität München, Ziemssenstr. 1, D-8000 München 2 (DE). SCHRAMM, Hans, J. [DE/DE]; Max-Planck-Institut für Biochemie, Am Klopferspitz, D-8033 Martinsried

(74) Anwalt: DEUFEL, Paul; Isartorplatz 6/IV, Postfach 26 02 47, D-8000 München 26 (DE).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Anderun-

gen eintreffen.

(54) Title: AGENT FOR INHIBITING SYMMETRICAL PROTEINS, IN PARTICULAR ENZYMES

(54) Bezeichnung: MITTEL ZUR HEMMUNG VON SYMMETRISCHEN PROTEINEN, INSBESONDERE VON ENZY-

(57) Abstract

An agent for inhibiting symmetrical proteins, in particular enzymes, in particular for inhibiting HIV protease, consists of structurally symmetrical or almost symmetrical enzyme inhibitors. The molecules of these enzyme inhibitors have a structure with the same symmetry as the molecule of the enzyme to be inhibited or a structure with partly or approximately the same symmetry as the molecule of enzyme to be inhibited, but in any case with sufficient symmetry to ensure inhibition.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere Enzymen, insbesondere zur Inhibierung der HIV-Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren, das sich dadurch auszeichnet, daß diese Enzyminhibitoren solche sind, deren Molekül in bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell gleich-symmetrisch oder teilweise oder annähernd, jedoch zur Hemmung hinreichend, symmetrisch sist.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

				•	
ΑT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MR	Mauritanien
BB	Barbados	FR	Frankreich	MW	Malawi
BE	Belgien	GA	Gabon	NL	Niederlande
BF	Burkina Fasso	GB	Vereinigtes Königreich	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
BJ	Benin	IT	Italien	SD	Sudan
BR	Brasilien .	JP	Japan	SE	Schweden
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CG	Kongo	ប	Liechtenstein	TD	Tachad ,
CH	Schweiz	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CM	Kamerun	m	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland, Bundesrepublik	MC	Monaco		•
DK	Dënemark	MG	Madagaskar		
			_		

10

15

20

25

30

Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere von Enzymen

Die Erfindung betrifft ein Mittel zur Hemmung von symmetrischen Enzymen, insbesondere zur Inhibierung der HIV-Proteinase bzw. Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast oder teilweise symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren.

Die spezifische Hemmung von Fremdenzymen (aus pathogenen Bakterien oder Viren) oder von körpereigenen Enzymen in pathologischen Zuständen ist ein wichtiges Anliegen der Medizin, da sie eine schonende Therapie von Erkrankungen erlaubt. Die Erfindung resultiert aus Versuchen, solche spezifischen Hemmstoffe für die Immunschwächekrankheit AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) zu finden. Sie erfolgten an der Proteinase, kurz auch "Protease" genannt, von HIV (Human Immunodeficiency Virus), einem spezifischen Enzym der AIDS verursachenden HI-Viren. Dieses Enzym ist für die Prozessierung der Vorläuferproteine verantwortlich. Es spaltet aus ihnen die fertigen Virusproteine heraus, aus denen dann das komplette Virus assembliert wird. Eine spezifische Hemmung der HIV-Protease sollte die Vermehrung der Viren unterbinden und die Symptome kurieren. Die Strategie der spezifischen Hemmung der Protease ist bei AIDS besonders bedeutungsvoll, da einmal immunologische Hemmansätze das Risiko in sich bergen, die restliche Immunabwehr des Körpers zu zerstören, und andererseits die Therapie unter Verwendung der bisher bekannten Hemmstoffe der Reversen Transkriptase von HIV (z.B. AZT, FLT, Suramin), einem anderen virusspezifischen Enzym, durch schwerste Nebenwirkungen beeinträchtigt ist. Auch die Therapie von AIDS mittels anderer Verbindungen (z.B. der polysulfatierten Polysaccharide) ist noch nicht überzeugend demonstriert worden oder auch mit schweren Nebenwirkungen belastet.

Es gibt zahlreiche Literatur über die HIV-Protease, wozu
35 beispielsweise verwiesen sei auf

1 L.H. Pearl & W.R. Taylor, Nature (1987) 329, 351-354 I. Katoh et al., Nature (1987) 329, 654-656 C. Debouck et al., P.N.A.S. (1987) 84, 8903-8906 P.L. Darke et al., B.B.Res.Comm. (1988) 156, 297-303 5 S.F.J. Le Grice et al., EMBO J. (1988) 7, 2547-2553 M.C. Graves et al., P.N.A.S. (1988) 85, 2499-2453 M. Kotler et al., P.N.A.S. (1988) 85, 4185-4189 S. Billich et al., J.B.C. (1988) 263, 17905-17908 S. Seelmeier et al., P.N.A.S. (1988) 85, 6612-6616 10 E.P. Lillehoj et al., J. Virol. (1988) 62, 3053-3058 L.E. Henderson et al., J. Virol. (1988) 62, 2587-2595 H.-G. Kräusslich et al., J. Virol. (1988) 62, 4393-4397 M. Miller et al., J.Mol.Biol. (1988) 204, 211-212

15

20

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine effektivere Beeinflussung von Proteasen (durch die zugehörigen Proteine) zu erreichen, z.B. um eine effektivere Therapie von AIDS und anderen Krankheiten, bei denen Enzyme involviert sind, zu erzielen. Eine hohe Spezifität und ein günstiger therapeutischer Index ist dabei von entscheidender Wichtigkeit.

Diese Aufgabe wird gelöst durch Enzyminhibitoren, deren Molekül in bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell von gleicher oder annähernd oder teilweise gleicher Symmetrie sind wie das zu hemmende Enzymmolekül.

Derartige Enzyminhibitoren sind also bezüglich ihrer

Symmetrie maßgeschneidert im Hinblick auf die Symmetrie des zu hemmenden Enzyms, das für das Fortschreiten der Krankheit essentiell ist. Diese Inhibitoren werden in an sich bekannter Weise synthetisiert und dann in ebenfalls in der Arzneimitteltechnik üblichen Weise, z.B. i.v. oder oral verabreicht, wobei die Hemmung der Enzyme durch die Verbindungen eine brauchbare Therapie darstellt.

1 Es wurde festgestellt, daß strukturell symmetrisch gebaute (kurz "symmetrisch" genannte) Enzyminhibitoren besonders gut geeignet sind, um die Vermehrung von HI-Viren durch Hemmung der symmetrischen (aus zwei identischen Halbmolekülen 5 bestehenden) viruskodierten Protease zu hemmen. Es werde ferner erkannt, daß auch andere symmetrische Enzyme auf diese Weise gehemmt werden können. Symmetrische oder teilweise symmetrische Enzyminhibitoren sind bekannt (z.B. für eine Reverse Transkriptase, über deren Struktur und 10 Symmetrie jedoch noch nichts bekannt war), das vorliegende Wirkungsprinzip der Zueinanderpassung von Symmetrie des Enzyms und Symmetrie des Enzymhemmers jedoch nicht. Symmetrische Inhibitoren auf Peptidbasis sind, soweit bekannt, bisher nicht beschrieben worden und konnten auch 15 nicht erwartet werden, da die natürlichen Substrate von Enzymen, auch von symmetrisch gebauten, nie symmetrisch sind. Der Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde, daß bei solchen Reaktionen (Bindung von unsymmetrischen Substraten an symmetrische Enzyme, bzw. Hemmung von symmetrisch 20 gebauten Enzymen durch unsymmetrische Peptidinhibitoren) entweder nur eine - gut passende - Hälfte des Peptids für die Bindung verantwortlich ist und die andere Hälfte nur eine Hilfsfunktion besitzt oder daß beide Seiten nicht optimal passen, aber zusammen eine für die Hemmung 25 ausreichende Affinität ergeben. Gut passende symmetrische Peptide und Peptidderivate (oder andere symmetrische organisch-chemische Verbindungen) sollten hingegen bei symmetrischen Enzymen allgemein eine stärkere Bindung (und gegebenenfalls Hemmung) vermitteln können als unsymmetrische 30 Peptide.

Es wurde ferner erkannt, daß aus Untereinheiten bestehende Enzymkomplexe - symmetrische wie unsymmetrische - gehemmt werden können, wenn der Zusammenhalt der einzelnen Untereinheiten durch geeignete Verbindungen gestört wird, so

daß entweder eine vollständige oder teilweise Zerlegung oder eine Labilisierung der Komplexe erfolgt, bzw. die Bildung der Komplexe oder der für die enzymatische Reaktion richtigen räumliche Struktur oder Konformation vollständig oder teilweise verhindert wird. Dies kann dadurch erreicht werden, daß Peptide oder peptidähnliche Verbindungen oder andere organisch-chemische Verbindungen angeboten werden, die Aminosäuresequenzen enthalten, oder von solchen abgeleitet sind oder mit solchen verwandt sind, die in den nativen Enzymen vorkommen und für den Zusammenhalt der für die Funktion nötigen Tertiär- und Quartärstruktur verantwortlich sind.

Dies gilt auch und vor allem in Hinsicht auf das aktive 15 Zentrum der Enzymkomplexe, wo relativ kleine Störungen der Struktur bereits zur Inaktivierung des Enzyms führen können. Peptide mit Sequenzen der das aktive Zentrum bildenden oder dieses stabilisierenden Peptidketten (oder Verbindungen mit ähnlicher Struktur) sind daher besonders geeignet, die 20 Aktivität des Enzyms zu hemmen, indem sie die Struktur stören oder die Bildung der korrekten räumlichen Enzymstruktur verhindern. Die hier einsetzbaren Verbindungen müssen selbst nicht symmetrisch sein, die Wirkung ist aber bei symmetrischen Enzymen besonders effektiv, da bei diesen 25 mehrere identische Bindungsstellen vorhanden sind und die Wirkung sich daher je nach Anzahl der Untereinheiten im Komplex vervielfacht. Dieses Prinzip gilt auch für nichtsymmetrische, aber aus Untereinheiten zusammengesetzte Proteine.

30

35

Die Vorteile sind eine sehr spezifische Hemmung der Proteine (Enzyme bzw. Proteasen), da es die genauen strukturellen Eigenheiten der Zielproteine berücksichtigt und die Eigenschaft der Symmetrie für eine verstärkte Bindung der Hemmstoffe aufgrund der mindestens verdoppelten Bindungsfläche ausnützt.

Bei AIDS - wie auch bei anderen Krankheiten - sollteidie hohe Spezifität und Bindungskraft der Inhibitoren eine relativ schonende Behandlung erlauben. Dies ist bei AIDS besonders wichtig, da dieses Krankheit eine sehr schonende Behandlung benötigt, weil AIDS das Immunsystem schädigt und daher die Anfälligkeit des Körpers gegen Krankheiten aller Art drastisch zunimmt. Zum anderen wird gerade bei AIDS, das nicht kausal kuriert werden kann, da die Virus-Nukleinsäure in das Genom eingebaut wird, eine lebenslängliche Therapie und damit eine sehr schonende und spezifische Behandlung nötig sein.

Ein solches Mittel zeichnet sich insbesondere dadurch aus, daß das Peptid oder die peptidähnliche Struktur oder die andere organisch-chemische Verbindung eine zentrale organisch-chemische Gruppe aufweist, die der Einfachheit halber M genannt werden soll, an die als Seitenketten Reste X, Y, Z, U, R gebunden sind, welche organische Reste sein können, insbesondere Aminosäuren oder Aminosäurederivate oder Monosaccharide oder deren Derivate oder Fettsäurereste oder ihre Derivate, insbesondere aber Peptide, die jeweils gleich oder annähernd gleich und in bezug auf die Gruppe M symmetrisch oder annähernd symmetrisch sind, so daß sich insgesamt eine symmetrische oder annähernd oder teilweise symmetrische Verbindung ergibt. Der Begriff "Symmetrie" ist hier im üblichen Sinn der Stereochemie zu verstehen, bezieht sich bei Proteinen also immer auf eine Drehachse.

Somit können durch solche Hemmstoffe Proteine, insbesondere Enzyme gehemmt werden, wenn sie zumindest bezüglich des hemmbaren Molekülteils eine lokale Symmetrie besitzen. Dies sind z.B. Enzyme, die teilweise oder ganz aus gleichen Untereinheiten bestehen, obwohl sie zusätzliche Untereinheiten besitzen können. Neben HIV-Protease, von der dies bekannt ist, gibt es auch andere virale Proteine,

15

20

- Membranproteine, Zytokine, Restriktionsenzyme und Multienzymkomplexe, deren Symmetrie entweder bekannt ist oder hinreichend bestimmt werden kann.
- Die symmetrischen Inhibitoren für die symmetrischen Proteine haben dieselbe Symmetrie wie die zu hemmenden Proteine und bestehen wie erwähnt aus einer zentralen Gruppe M und Seitenarmen, welche der Einfachheit halber im vorliegenden Fall nur mit X bezeichnet werden sollen, so daß sich eine Formel nach dem Schema

$M(X)_n$

ergibt, wobei n die Zähligkeit der Symmetrie des Proteins ist, z.B. "2" bei Proteinen mit 2-zähliger Achse, Symmetrie C₂).

Wie erwähnt, können die Seitenarme bestehen aus Aminosäuren, Peptiden oder Derivaten oder anderen organisch-chemischen

Verbindungen, wobei jedoch Peptide unter anderem den Vorteil haben, durch leichte, zum Teil automatisierte Synthese zugänglich zu sein. Im Prinzip sind jedoch z.B. auch Fettsäuren, Kohlehydrate oder sogar anorganische Verbindungen als Seitenarme möglich, wenn sie für das spezielle Enzym passen. Bevorzugt werden vor allem kurze Peptide meist mit 2 bis 4 Aminosäuren pro Seitenarm verwendet.

Die beiden oder auch mehreren Arme müssen zueinander symmetrisch oder annähernd oder teilweise symmetrisch sein, in dem Sinne, daß die Symmetrie des zu hemmenden Proteins, z.B. eine 2-Zähligkeit, sich in dem Inhibitor wiederfindet. Im Beispiel der Dyade muß also beim Inhibitor durch Drehen um die zweizählige Achse ein Seitenarm in den anderen übergeführt werden können.

5

10

- 1 Dies kann z.B. auf folgende Weise erreicht werden:
 - a) Wenn die Laufrichtung der Peptidketten in den beiden Hälften verschieden ist, dergestalt, daß in einer Hälfte der NH-CO-Vektor zum Zentrum weist, in der anderen Hälfte vom Zentrum weg, dann muß in einer Hälfte durch Verwendung von Aminosäuren entgegengesetzter Chiralität (D statt L, bzw. umgekehrt) ein Ausgleich geschaffen werden. Der so entstandene Inhibitor ist dann bezüglich der Seitenketten noch annähernd symmetrisch, bezüglich der Peptidbindungen allerdings nicht. Dies genügt aber in aller Regel, daß der Hemmer für das zu hemmende Enzym noch hinreichend symmetrisch ist.
- Inhibitors symmetrisch sind, sondern z.B. ein Tyrösin auf einer Seite durch ein Phenylalanin ergänzt wird, die restlichen Aminosäuren aber gleich und komplementär sind, ist immer noch mit einer hohen Hemmaktivität zu rechnen. Solche Hemmstoffe können sogar bezüglich der Löslichkeit, Membrangängigkeit und dergleichen günstiger sein alls streng symmetrische Verbindungen. Für die Abweichung sind strukturelle und physikalisch-chemische Parameter wie Größe, Ladung, Hydrophilizität und dergleichen, maßgebend. So ist der Inhibitor

Phe-Thr-Ile-M-Leu-Ser-Tyr

bezüglich der genannten Eigenschaften "symmetrischer" als

Ala-Arg-Gly-M-Gly-Asp-Ala (ungleiche Ladung, Arg/Asp))

oder

Gly-Gly-Try-M-Gly-Gly-Gly (ungleiche Größe, Try/Gly), da der Unterschied, z.B. zwischen Thr einerseits und Ser andererseits geringer ist als zwischen Arg und Asp oder zwischen Try und Gly.

WO 90/09191 PCT/EP90/00219

-8-

Kleine Abweichungen von der Symmetrie können daher prinzipiell geradezu von Vorteil sein. Es muß nur der Gewinn an Affinität durch die optimale Strukturanpassung (durch Symmetrieanpassung) noch groß genug für starke Bindung sein.

5

Die Zentralen Gruppen haben die Aufgaben,

- a) die Symmetrie des Proteins auf den Hemmstoff zu übertragen,
- b) die für eine gute Bindung mitverantwortlichen Seitenarme im richtgen Abstand und Bindungswinkel zu halten, und
- c) selbst durch gute Einpassung in das Protein, z.B. das aktive Zentrum eines Enzyms, zur guten Bindung des Hemmstoffes und damit zur Hemmung des Proteins beizutragen.

15

20

25

10

Die Zentralen Gruppen müssen selbst nicht unbedingt symmetrisch sein, z.B. wenn die Seitenarme weitgehend für die Affinität verantwortlich sind. Die Zentrale Gruppe kann chiral sein, z.B. Statin. Wichtig ist, daß die Vermittlung der Orientierung der Seitenarme und der richtigen Abstände optimal ist. Dies ist jedoch für den präparativen Chemiker in Kenntnis der Symmetrie oder eventuell sogar der genaueren Struktur des Enzyms kein Problem. Die Größe der Zentralen Gruppe kann verschieden sein, ebenso ihre chemische Natur, so daß auch anorganische Gruppen wie -P(O)OH- oder auch nur eine Bindung selbst als Zentrale Gruppe gelten kann. Ein Strukturmimikry des Substrats oder eines Übergangszustandes einer enzymatischen Reaktion durch den Hemmstoff kann wichtig sein.

30

35

Ungeeignet sind Zentrale Gruppen, wenn sie zwar die richtigen Seitenketten (entsprechende Reihenfolge und Chiralität der Aminosäuren) im richtigen Abstand anordnen, aber so, daß ein Arm bezüglich der Richtung der Symmetrieachse falsch angeordnet ist, z.B. wenn "oben" und "unten" verkehrt sind.

Die folgenden Beispiele zeigen teilweise oder annähernd symmetrische Peptide, die zu einer Hemmung der HI-Viren in H9-Zellen führen.

BEISPIEL 1

A) H-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Thr-Gly-OH

- B) t-BOC-L-Leu-NH-CH2-CHOH-CH2-COOH
- C) Cl-CH2-CO-Gly-Ala-Phe-Pro-Ile-Ala-OH
- D) CH₃CO-Thr-Leu-Asn-NH-CH₂-CHOH-CH₂-NH-Asn-Leu-Thr-COCH₃
- 20 E) Ala-Asp-Thr-B-Naphthylamid
 - F) CH_2 -(- CH_2 CO-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Thr-Gly-OH)

Die Verbindungen (a), (b), (c), (d) wurden bei Molgritäten getestet, die von 0,1,uM bis 1000,uM reichten.

Infektivitätsversuche wurden wie folgt durchgeführt: Eine HIV-l Suspension mit einem Gehalt an 10² infektiösen. Einheiten wurde auf 5 x 10⁶ H9 Zellen in einem Volumen von 1 mm für eine Zeitspanne von 2 h bei 4°C absorbiert. Nach dieser Zeitspanne wurden 9 ml an Gewebekulturmedium, welches die geeignete Inhibitorkonzentration enthielt, zugegeben. Das Medium wurde jeden Tag gegen frisches Medium plüs Inhibitor ausgewechselt. Zwei Kontrollkulturen ohne Inhibitor wurden mitangesetzt, eine, um den normalen Grad

der Virusreplikation zu bestimmen sowie eine Kultur mit

1 Inhibitor ohne Virus, um zu bestimmen, ob diese Substanzen für H9 Zellen zytotoxisch sind. Es wurde kein zytotoxischer Effekt beobachtet wie sich durch das Anfärben der Zellen mit Trypanblau zeigte. Die Menge an Virusantigen, die von den 5 infizierten Zellen erzeugt wurde, wurde täglich 8 Tage lang durch Elisa gemessen, wobei HIV-1 Antigen in Gewebekulturmedium bestimmt wird. Nach dieser Zeitspanne wurden die Zellen pelletisiert, im Medium ohne Inhibitor gewaschen und weiter im Medium ohne Inhibitor inkubiert. Die 10 Antigenproduktion wurde am Tag 9 und 12 (d.h. 1 und 3 Tage nach Entfernung des Inhibitors) gemessen. An den Tagen 7, 8, 9 und 12 wurde die Virusproduktion auch durch Reverse Transkriptasebestimmung von Überständen des

Dabei ergab sich eine deutliche Hemmung der HIV l Replikation wie die beigefügten Tabellen l bis 5 für die

Verbindungen (a) bis (d) zeigen.

Zellkulturmediums gemessen.

Bei den folgenden Beispielen bedeuten R und R' Peptidreste, vorzugsweise solche bis maximal 9 Aminosäuren, insbesondere mit 2 bis 4 Aminosäuren, oder andere kurze organisch-chemische Reste, beispielsweise CH₃(CH₂)_nCO-mit n = 1 bis 10, CH₃CO-, H-, -NH₂, -NHR, -OR; X bedeutet kleine Aminosäurereste, wie Gly, Ala, Ser, oder andere kleine Reste, A und B sind Aminosäuren oder andere organische Reste. Dies gilt für alle folgenden Beispiele, wenn nichts anderes angegeben ist.

30 BEISPIEL 2

R-(D)-Ser-(D)-Gln-(D)-Leu-(D)-Phe-(D)-Asn-(D)-Gln-OR'

Acetyl-(D)-Asp-(D)-Leu-(D)-Phe-(D)-Leu-(D)-Ile-(D)-Lys-NH $_2$

1 Acetyl-(D)-Ala-(D)-Val-(D)-Pro-(D)-Phe-(D)-Asn-(D)-Arg-NH2

Acetyl-(D)-Gln-(D)-Val-(D)-Ile-(D)-Pro-(D)-Tyr-(D)-Asn-(D)-Gln-(D)-Arg-NH2

5

10

Solche Verbindungen können bei sonst sehr substratähnlicher Struktur anstelle der spaltbaren -CONH-Peptidbindung eine nicht oder schwer spaltbare -NHCO-Bindung, also mit umgekehrter Richtung, besitzen, z.B. unter Verwendung des retro-inverso-Prinzips unter gleichzeitiger Umkehrung von Laufrichtung der Sequenzen und der Konfiguration der Aminosäuren, z.B. nach den Formeln

(D)-A-NHCO-(D)-B-NHCO-(D)-C-NHCO-(D)-D-, anstelle eines natürlichen Substratpeptids der Formel

(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-(L)-D-,
wobei die Paare D und A, bzw. C und B, symmetrisch sein oder
wenigstens eine strukturelle Ähnlichkeit (bezüglich
Hydrophobizität, Ladung, Größe der Seitenketten etc.) zeigen
sollen.

20

BEISPIEL 3

Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Gln-(D)-Leu-NH-CO-CH(C₄H₉)-CO-(L)-Gln-(L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

25

Acetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Asn-(L)-Leu-NH-CH₂-CH(C₃H₇)-CO-(D)-Asn-(D)-Gln-(D)-Leu-NH₂

Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Gln-NH-CH₂-CO-CH₂-CO-(L)-Gln-30 (L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Asn-Statin-(L)-Asn-(L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

- Acetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Gln-Statin-(D)-Gln-(D)-Ala-(D)-Arg-OH
- Fluoracetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Asn-Statin-(D)-Asn-(D)-Ala(D)-Arg-NH₂

Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Leu-Statin-(L)-Leu-(L)-Ala-(L)-Arg-NH2

Acetyl-(D)-Leu-(D)-Arg-(D)-Asn-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-CO-(L)-Asn-(L)-Arg-(L)-Leu-NH₂

In den verwendeten Verbindungen kann ein Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer räumlichen Konfiguration bestehen, während die andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration besteht, dergestalt, daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend des in den Formeln

20 (L)-C-(L)-B-(L)-A-(D)-A-(D)-B-(D)-Coder

(D)-C-(D)-B-(D)-A-(L)-A-(L)-B-(L)-C

ausgedrückten Prinzips, wobei A, B, C Aminosäurereste darstellen. Hierbei ist darauf zu achten, daß durch Einfügen einer geeigneten Zentralen Gruppe M (im Zentrum) das auf Seite 8 unten dargelegte Prinzip gewahrt ist.

Auch hier ist bei Hemmung für Protease die Enzymhemmung dadurch zu erreichen, daß die Enzymhemmer anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen, wie dies etwa bei Beispiel 7 erläutert ist,

sowie daß in den verwendeten Verbindungen an eine nichtsymmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe zwei

Statinreste oder zwei verwandte Verbindungen so angeheftet werden, daß insgesamt eine räumlich-symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, wie dies auch für Beispiel 4 erläutert ist,

und daß in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei gleichen Substituenten zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd gleicher und sich entsprechender Aminosäuresequenz und gleicher Konfiguration bzw. Chiralität, aber mit umgekehrter Laufrichtung der Peptidbindungen so angeheftet werden, daß insgesamt eine räumlich-symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, wie dies auch für Beispiel 7 gezeigt ist,

ferner, daß wie auch in Beispiel 8 gezeigt, in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale

organisch-chemische Gruppe mit zwei unterschiedlichen Substituenten zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd gleicher und sich entsprechender Aminosäuresequenz mit gleicher Laufrichtung der Peptidbindungen, aber mit umgekehrter Chiralität der Aminosäuren so angeheftet werden, daß insgesamt eine räumlich-symmetrische oder annähernd oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht,

und schließlich, daß in den verwendeten Verbindungen an eine symmetrische oder teilweise symmetrische oder annähernd symmetrische Verbindung chemisch reaktive Reste, z.B. entsprechend den Formeln XCH₂CO-, N₂CHCO-, NC-CH₂-CO-, RO₂C-, CH₂=CR-, RO_nS-, HS-, RO(H₂N=)C⁺- so angeheftet werden, daß die Verbindungen von Zielenzym reversibel oder irreversibel gebunden werden können. Hier

bedeutet X Halogen, R ist ein Esterrest mit 1 bis 12 Kohlenstoffatomen, aber vorzugsweise ein C_1 - C_3 -Rest, oder ein Phenyl- oder Benzylrest und n = 1 bis 3.

5 BEISPIEL 4

10

20

R-Statin-X-Statin-R' oder

CH3CO-Statin-X-Statin-NH2 oder

Isovaleryl-Ser-Ser-Statin-Ala-Statin-NH2 oder

Acetyl-Ser-Statin-Gly-Statin-NH2 oder

15 Acetyl-Statin-Ala-Statin-NH2 oder

Fluoracetyl-Statin-Ala-Statin-NH2 oder

Acetyl-Statin-Ala-Statin-NH-CO-CH₂-CN;

ferner: Kombinationen von (3S,4S)-, (3R,4R)-, (3R,4S) und (3S,4R)-Statin in obiger oder ähnlicher Weise;

ferner: Modifizierung von R entsprechend der Sequenz von
Pepstatin A, den Bindungssequenzen in typischen Substraten
von HIV-Protease, etc..

In den verwendeten Verbindungen sind an eine nichtsymmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe zwei Statinreste oder zwei verwandte Verbindungen so angeheftet, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.

1 BEISPIEL 5

R-Asp-Thr-Gly-R' oder

5 R-Asp-Ser-Gly-R' oder

R-A-Asp-Thr-Gly-B-R' oder

Acetyl-Ile-Asp-Thr-Gly-Ala-NH2 oder

10

Isovaleryl-Ile-Asp-Ser-Gly-Ala-NH-(CH₂)₃-CH₃ oder

Acetyl-Asp-Thr-Gly-Ala-NH₂

15 Chloracetyl-Asp-Thr-Gly-Ala-NH₂

Acetyl-Ile-Gly-Arg-Asn-NH2

Acetyl-Ile-Gly-Gly-Arg-Asn-Ile-NH2

Die verwendeten Verbindungen enthalten die Aminosäuresequenz Asp-Thr-Gly oder Asp-Ser-Gly oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche

- organisch-chemische Reste, die im Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrums aus gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung verhindern
- 30 können.

BEISPIEL 6

Acetyl-Thr-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-Val-NH2 oder

- 1 Fluoracetyl-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-NH₂ oder
 Isovaleryl-Trp-Gln-Arg-Pro-NH₂ oder
- 5 H-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-NH2 oder ähnliche Verbindungen

Die verwendeten Verbindungen enthalten im Falle der HIV-Protease als Zielenzym die Aminosäuresequenz Thr-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-Val oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste oder Teile daraus, die für die Assoziation der Untereinheiten der HIV-Protease und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern oder ihre Bildung verhindern können.

BEISPIEL 7

20

Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-(CH₂)₃-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl
Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-O-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl

Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-CHOH-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl
Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-NH-CH₂-NCH₃-Asn-Leu-Arg-Acetyl

H-(D)-Leu-(D)-Asn-NH-CHF-CO-CHF-NH-(D)-Asn-(D)-Leu-30 (D)-Arg-H

Bei den verwendeten Verbindungen wird im Falle von Proteinasen als Zielenzym die Enzymhemmung dadurch erreicht, daß sie anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen, z.B. nach den Formeln

```
1
       -S-S-, -S-, -O-,
       -CO-CHR-CH(OH)-CHR'-CO-, -NR-NR'-,
       -NH-CHR-CH(OH)-CHR'-NH-, -NH-CF2-CO-CH2-NH-,
       -NH-CF_2-CO-CF_2-NH-, -CO-(CH_2)_3-CO-,
 5
       -NH-(CH_2)_3-NH-, -CO-CH_2-O-CH_2-CO-, -N(OR)-, -NR-
       -P(O)_nOH-, -CO-CHR-CO-,
       -NH-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-NH-, -CO-CH<sub>2</sub>-NR-CH<sub>2</sub>-CO-,
       -N(C_5H_{11})-CF_2-CO-CF_2-N(C_5H_{11})-
       -N(C_AH_9)-CH_2-CH(OH)-CH_2-N(C_AH_9)-L
10
       -(2S,3S)-NH-CH(CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>)-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-NR-,
       oder ähnliche Verbindungen, wobei R und R' Wasserstoff oder
       Aryl- oder Alkylreste bis C12 bedeuten und n die Zahl 1
       oder 2 bedeutet.
15
       In den verwendeten Verbindungen werden an eine zentrale
       organisch-chemische Gruppe mit zwei gleichen Substituenten
       zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher
       oder annähernd gleicher oder sich entsprechender
       Aminosäuresequenz und gleicher Konfiguration, aber mit
20
       umgekehrter Laufrichtung so angeheftet, daß insgesamt eine
       räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder
       teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B.
       entsprechend den Formeln
       (L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO-
25
       (L)-B-NHCO-(L)-A oder
       (L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONH-
       (L)-B-CONH-(L)-C oder
       (L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-NHCO-(L)-C-NHCO-
       (L)-B-NHCO-(L)-A oder
30
       (L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-CONH-(L)-A-CONH-
```

(L)-A-CONH-(D)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO-

(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONE

35

(L)-B-CONH-(L)-C oder

(L)-B-NHCO-(L)-A oder

(L)-B-CONH-(D)-C oder

1 (L)-B-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO(L)-B-NHCO-(L)-A oder
(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C,
wobei A, B, C Aminosäurereste und M eine zentrale
5 organisch-chemische Gruppe (Beispiele s.o.) darstellen.

BEISPIEL 8

Zusätzlich zu den in oben in Beispiel 7 gezeigten Möglichkeiten werden hier in den verwendeten Verbindungen an

eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei unterschiedlichen Substituenten zwei Peptide oder

peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd gleicher oder sich entsprechender Aminosäuresequenz, aber mit umgekehrter Laufrichtung und Konfiguration der Aminosäuren, aber gleicher Laufrichtung der Peptidbindungen, so angeheftet, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder

annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln (L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-M.CONH-(D)-C-CONH-

- (D)-B-CONH-(D)-A oder
- (L)-A-CONH-(D)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-CONH-(D)-C-CONH-
- 35 (D)-B-CONH-(D)-A oder

- 1 (D)-A-CONH-(D)-B-CONH-(D)-C-CONH-M-CONH-(L)-C-CONH-
 - (L)-B-CONH-(L)-A, oder
 - (D)-A-NHCO-(D)-B-NHCO-(D)-C-NHCO-M-NHCO-(L)-C-NHCO-
 - (L)-B-NHCO-(D)-A
- wobei A, B, C Aminosäurereste und M eine zentrale Gruppe darstellen.

Bei den verwendeten Verbindungen wird im Falle von
Proteinasen als Zielenzym die Enzymhemmung dadurch erreicht,
daß sie anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine
nichtspaltbare Bindung besitzen, z.B. nach den Formeln

-CR₂-NH-, -CH(OH)-NH-, -CO-N(CH₃)-, -P(O)_n-NH-, -(3S,4S)-4-Amino-3-hydroxy-6-methylheptansäure- (Statin),

-(3S,4S)-3-Hydroxy-4-amino-5-phenylpentansäure (AHPPA),

oder ähnliche Verbindungen, wobei R und R' Wasserstoff oder Aryl- oder Alkylreste bis C₁₂ bedeuten und n die Zanl l oder 2 bedeutet.

BEISPIEL 9

20

NH₂-Arg-Leu-Asn-CO-(CH₂)₃-CO-Asn-Leu-Lys-NH₂

 $H_2N-(D)-Leu-(D)-Asn-CO-(CH_2)_3-CO-(D)-Asn-(D)-Ile-NH_2$

NH₂-Leu-Asn-CO-CH₂-NH-CH₂-CO-Asn-Leu-Arg-OR

 $\mathtt{NH_2-Arg-Leu-Asn-CO-CH_2-CHOH-CH_2-CO-Asn-Leu-Arg-NH_2}$

Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-NH-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl

H-Leu-Leu-Asn-NH-CHF-CO-CHF-NH-Asn-Leu-Arg-H

Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH2-O-CH2-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl

35 Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH2-CH(OH)-CH2-NH- Asn-Leu-H

WO 90/09191 PCT/EP90/00219

-20-

H-(L)-Arg-(L)-Ile-(L)-Asn-NH-CH₂-CO-(D)-Gln-(D)-Leu-(D)-Arg-OH

H-Ala-Ala-Statin-(D)-Val-(D)-Val-OCH3

5

Zusätzlich zu den in den beiden vorhergehenden Beispielen angegebenen Möglichkeiten können hier in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit unterschiedlichen Aminosäuresequenzen, aber mit ähnlicher

- unterschiedlichen Aminosäuresequenzen, aber mit ähnlicher bzw. entsprechender Verteilung von Resten mit gleicher elektrischer Ladung oder gleicher oder ähnlicher Hydrophobizität oder Hydrophilität oder Größe der Seitenketten oder einer anderen physikalisch-chemischen
- Eigenschaft so eingebaut werden, daß insgesamt eine räumlich annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln
 - $(L)-C-(L)-A^+-CONH-M-CONH-(D)-B^+-(D)-C$, oder
 - $(L)-C-(L)-A^+-CONH-M-NHCO-(L)-B^+-(L)-C$, oder
- 20 (L)-C-(L)-A⁺-CONH-M-CONH-(D)-B⁺-(D)-D, oder
 - $(L)-C-(L)-A^+-CONH-M-CONH-(D)-B^+-(L)-C$, oder
 - (L)-D-(L)-AX-CONH-M-NHCO-(L)-BX-(L)-C, oder
 - (L)-C-(L)-AX-CONH-M-CONH-(D)-BX-(D)-C, oder
 - (L)-C-(L)-AX-CONH-NHCO-(L)-BX-(L)-C, oder

(L)-C-(L)-A⁺-HNCO-CONH-(D)-B⁺-(D)-D, wobei A⁺, B⁺ = zwei verschiedene Aminosäurereste mit

wobei A⁺, B⁺ = zwei verschiedene Aminosäurereste mit gleicher Ladung, M eine zentrale organisch-chemische Gruppe und AX, BX zwei verschiedene Aminosäuren mit vergleichbar großen hydrophoben oder hydrophilen Seitenketten sind.

30

Abschließend seien noch einige Beispiele für zentrale Gruppen (M), für Seitenketten sowie für ganze Inhibitoren gezeigt:

```
1
        Beispiele für Zentrale Gruppen:
        -NH-CH(OH)-CH(OH)-NH-, -O-, Stating
        -NH-CH(CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>)-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-NH-,
 5
       -NH-CH(C_4H_9)-CO-CH(C_4H_9)-NH-,
        -NH-CH2-CH(OH)-CH2-NH-,
        (1s,3s)-NH-CH(Cyclohexylmethyl)-CO-CH(Cyclohexylmethyl)-
        NH-, 2-Alkylstatin, -CH2-, Ethylenepoxid, Thiophen,
10
        Beispiele für Seitenketten:
        Ac-Ser-Gln-Asn-Tyr-, H-His-Pro-His-Tyr-,
        Ac-Arg-Ser-Gln-His-Cha-, H-Ala-Ala-
15
        Beispiele für ganze Inhibitoren:
        tBoc-Arg-Ser-Gln-His-NR-CH2-CH(OH)-CH2-NR-His-Gln-Ser-Arg-
        tBoc,
        (R=-CH_2-CH(CH_3)_2, -CH_2-C_6H_{11} \text{ etc.})
20
        H-His-Pro-His-NH-CHR-CH(OH)-CH2-NH-His-Pro-His-H
        (R=-CH_2-C_6H_{11} \text{ etc.})
        Ac-His-Pro-His-NH-CHR-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-CO-NH-\underline{D}-His-\underline{D}-Gln-OCH<sub>3</sub>
25
        (R=-CH_2-C_6H_{11} \text{ etc.})
        Ac-Arg-Ser-Gln-Asn-
        -NH-CH(CH_2C_6H_{11})-CO-CH(CH_2C_6H_{11})-NH-CH
        -Asn-Gln-Ser-Arg-Ac
30
        (Zentrale Gruppe: 1S,3S; statt CO auch -CH(OH)-, -CO-CO
        -CH(OH)-CH(OH)-, Furan, Ethylenepoxid etc.)
```

tBoc-His-Pro-Phe-His-Leu-Statin-D-His-D-Phe-D-Pro-D-His- tBoc

BNSDOCID: <WO___9009191A1_I_>

- Ein Verfahren zur Inhibierung von Proteasen, z.B.
 HIV-Protease durch bestimmte Peptide besteht, kurz
 skizziert, darin, daß man
 - 1. die Symmetrie des zu hemmenden Enzyms bestimmt,
- 5 2. die Sequenz eines guten Substrats oder eines hemmenden Peptids auswählt und
 - 3. die dem Symmetriezentrum am nächsten liegenden Aminosäuren feststellt,
- 4. ein solches, die Bindung vermittelndes Peptid an diesen Aminosäuren durch chemische Synthese so mittels einer zentralen Gruppe verknüpft, daß ein hinreichend symmetrisches Peptid entsteht,
 - 5. wobei man eine solche zentrale Gruppe wählt, daß die sich entsprechenden Aminosäuren im richtigen Abstand zu Mitte stehen,
 - 6. mittels Computer aided molecular design die gute Paßform überprüft und die genaue Einhaltung der Symmetrie im Inhibitor feststellt und
- 7. die Hemmaktivität überprüft, insbesondere wenn die Strukturkoordinaten nicht bekannt sind. In diesem Fall wird die Sequenz der Seitenarme und die Struktur der zentralen Gruppe durch trial and error über die Hemmaktivität optimiert.
- Die chemische Herstellung solcher Verbindungen ist an sich bekannt, ebenso ist die Verabreichung der Verbindungen an sich bekannt, so daß der Fachmann hier auf übliche und wohlbekannte Arbeitsweisen zurückgreifen kann.
- Abschließend seien noch einige bevorzugte Ausführungsformen hinsichtlich Hemmverbindungen angegeben:
 - Die verwendeten Verbindungen bestehen vorzugsweise aus Peptiden oder peptidanalogen Strukturen oder aus

Verbindungen, welche Peptide oder peptidanaloge Strukturen enthalten oder von solchen Strukturen abgeleiteten Verbindungen bestehen, wobei z.B.

folgende symmetrische oder teilweise symmetrische Verbindungen in betracht gezogen werden:

X-Y-Z-M-Z-Y-X, Z-M-Z, X-Y-Z-Z-Y-X, X-Y-Z-M-Z-Y

X-U-Y-X-Z-Z-X-Y'-X, Z-Z-Y-R, R-U-X-Y-Z-M-Z, oder auch nur M, wobei X,Y,Z,U,R organische Reste, insbesondere Aminosäuren oder Derivate davon, Monosaccharide oder Derivate,

Fettsäurereste oder Derivate, sind, M die zentrale organisch-chemische Gruppe darstellt und die beiden Strukturen Y, die zu beiden Seiten der zentralen Gruppe stehen, strukturell oder in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften ähnliche Verbindungen sind, was zusätzlich

oder stattdessen auch für die anderen genannten Gruppen X,
Z, U oder R gelten kann. Bei guter Passung kann eine
symmetrische oder fast symmetrische Gruppe M zur Hemmung
ausreichen, z.B. ein Dipeptidanalogon, wie es auf Seite 20,
Zeile 18-20 für die Gruppe M von -NH-... bis ...-NH- gezeigt

20 ist.

Die Voraussetzung zur Bindung der verwendeten Verbindungen an das Zielenzym kann z.B. dadurch geschaffen werden, daß in ihnen typische Spaltsequenzen oder Bindungssequenzen der natürlichen Substrate oder mit ihnen verwandten Strukturen oder Strukturen dieser Art verwendet werden, die so modifiziert wurden, daß sie dem Zielenzym nicht mehr als Substrat dienen und als Inhibitoren wirken. In den verwendeten Verbindungen können die Voraussetzungen zur

Hemmung der Zielenzyme auch dadurch erreicht werden, daß

Substrate oder substratähnliche Verbindungen so modifiziert werden, daß sie anstelle der enzymatisch veränderbaren Stellen nicht mehr veränderbare Stellen tragen und daher als Inhibitoren wirken.

35

PCT/EP90/00219

1 Eine bevorzugte Gruppe von Hemmverbindungen im Falle von Proteinasen als Zielenzym haben anstelle der spaltbaren Peptidbindungen ein Dipeptidanalogon mit reduzierter Peptidbindung oder eine andere ähnliche Verbindung mit 5 nichtspaltbarer Bindung und gleicher oder ähnlicher Länge wie ein Dipeptid und wirken so für das Zielenzym als Inhibitoren. Die verwendeten Verbindungen können im Falle von Proteinasen als Zielenzym anstelle der spaltbaren Peptidbindung Statin oder ein Derivat des Statins oder eine 10 verwandte oder ähnliche, nichtspaltbare Verbindung mit gleicher oder ähnlicher Länge wie ein Dipeptid besitzen. Sie können aber auch im Falle von Proteinasen als Zielenzym anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine phosphorhaltige nichtspaltbare Verbindung mit gleicher oder ähnlicher Länge 15 wie ein Dipeptid besitzen, wie z.B. Phosphonsäureamide. Statin und ähnliche Dipeptidanaloga stellen selbst bereits annähernd symmetrische Verbindungen dar (Symmetrie nahe am -OH).

Bei Proteinasen als Zielenzym kann in den Hemmverbindungen durch Einführung einer längeren Aminosäure oder einer anderen organisch-chemischen Gruppe die Stelle der spaltbaren Peptidbindung im Vergleich zu der Lage der Spaltstelle in einem guten Substrat räumlich verschoben werden, wodurch die Verbindung für das Zielenzym als Inhibitor wirkt. Es kann z.B. in den verwendeten Verbindungen die Stelle der spaltbaren Peptidbindungen durch Einführung von Statin oder einer verwandten organisch-chemischen Gruppe oder einer anderen Gruppe im Vergleich zu der Bindungslage eines guten Substrats räumlich verschoben werden.

In den verwendeten Verbindungen kann die Symmetrie oder teilweise Symmetrie der Verbindungen dadurch erreicht werden, daß in den Verbindungen zentrale organisch-chemische

- 1 Gruppen vorhanden sind, die als Zentren der Symmetrie oder der annähernden Symmetrie wirken, oder die verwendeten Verbindungen besitzen zentrale organisch-chemische Gruppen mit zwei identischen oder in ihrer Funktion äquivaTenten 5 organischen Substituenten, die mit zwei identischen oder teilweise identischen Peptiden oder peptidähnlichen Verbindungen so reagieren können, daß eine symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln 10 C-CONH-B-CONH-A-CONH-M-NHCO-A-NHCO-B-NHCO-C oder C-NHCO-B-CHCO-A-NHCO-M-CONH-A-CONH-B-CONH-C, wobei A, B, C Aminosäurereste und M eine zentrale organisch-chemische Gruppe darstellen. Die verwendeten 15 Verbindungen können eine symmetrische oder annähernd symmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei identischen oder in ihrer Funktion äquivalenten organischen Substituenten besitzen, die in der Länge mindestens einem Dipeptid entsprechen und mit Peptiden oder peptidähnlichen 20 Verbindungen so reagieren können, daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht. Falls das oben erstgenannte Formelbeispiel (...-NH-M-NH-...) einem guten Inhibitor entspricht, muß im zweiten Beispiel (...-CO-M-CO-...) die 25 Chiralität der verwendeten gleichen Aminosäuren (A,B,C) umgedreht werden ("D"-Formen), um eine ähnlich gute Passung und damit Hemmung zu erreichen.
- Für den Fall einer zentralen organisch-chemischen Gruppe mit zwei ungleichen Substituenten, an die zwei gleiche oder annähernd gleiche oder sich entsprechende Peptide oder peptidähnliche Verbindungen angeheftet sind, seien als Beispiele die Formeln

 C-CONH-B-CONH-A-CONH-A-CONH-B-CONH-C oder

1 C-NHCO-B-NHCO-A-NHCO-M-NHCO-A-NHCO-B-NHCO-C genannt, wobei A, B, C Aminosäurereste und M die zentrale organisch-chemische Gruppe sind. Die symmetrische Sequenzanordnung allein reicht im allgemeinen nicht aus für die Konstitution eines hinreichend "symmetrischen" Inhibitors, wie nachstehend noch erläutert wird (s.a. Seite 8).

Die verwendeten Verbindungen können auch zwei Statinreste 10 oder zwei entsprechend verwandte Verbindungen mit oder ohne Zwischengruppen enthalten, so daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, wobei die verwendeten Verbindungen zwei Statinreste mit entgegengesetzter 15 Konfiguration oder zwei entsprechend verwandte Verbindungen mit oder ohne Zwischengruppen enthalten können. Die verwendeten Verbindungen können zwei Statinreste oder zwei entsprechend verwandte Verbindungen mit oder ohne Zwischengruppen enthalten, wobei einer der Statinreste 20 endständig ist, um die freie Drehbarkeit der Bindungen zu gewährleisten, so daß die Einnahme einer räumlich symmetrischen oder annähernd symmetrischen oder teilweise symmetrischen Konformation der Gesamtverbindung erleichtert wird.

25

30

Wenn in den verwendeten Verbindungen wie im Normalfall ein Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer einzigen räumlichen Konfiguration (z.B. L-Form) besteht, muß die andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration bestehen, um einen hinreichend symmetrischen Inhibitor zu erzeugen. Hier sind folgende Beispiele bevorzugt:

(L)-C-(L)-B-(L)-A-(D)-A-(D)-B-(D)-C oder

(D)-C-(D)-B-(D)-A-(L)-A-(L)-B-(L)-C wobei A,B,C Aminosäurereste darstellen.

1 In den verwendeten Verbindungen kann an ein Peptid oder an eine peptidähnliche Verbindung ein Nichtpeptidrest so gebunden werden, daß eine annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. in 5 bezug auf eine oder mehrere physikalisch-chemische Eigenschaften wie Ladung, Hydrophilizität, Hydrophobizität oder Größe der Seitenkette bzw. des Restes, oder in den verwendeten Verbindungen ist an ein Peptid oder an eine peptidähnliche Verbindung oder an ein Peptid mit einer 10 zentralen organisch-chemischen Gruppe eine Seitenkette oder ein Nichtpeptidrest so gebunden, z.B. entsprechend den Formeln B-A-M-A-R oder R-B-A-M-A oder R-C-B-A-B-A oder B-A-M-R, wobei A,B,C,D, Aminosäurereste, M eine zentrale 15 organisch-chemische Gruppe und R einen organischen Rest darstellt, dergestalt, daß insgesamt eine räumlich annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. in bezug auf eine oder mehrere physikalisch-chemische Eigenschaften, wie Ladung, 20 Hydrophiliziät, Hydrophobizität oder Größe der Seitenkette bzw. des Restes. Es können aber an ein symmetrisches oder teilweise symmetrisches oder annähernd symmetrisches Peptid oder eine peptidähnliche Verbindung chemisch reaktive Reste, z.p. 25 entsprechend den Formeln XCH2CO-, N2CHCO-, NC-CH2-CO-, RO_2C- , $CH_2=CR-$, RO_nS- , HS-, $RO(H_2N=)C^+-$, so gebunden sein, daß die Verbindungen vom Zielenzym geversibel oder irreversibel gebunden werden können. Auch hier bedeutet n die Zahl 1 oder 2 und R ist ein üblicher Esterrest, wie 30 schon früher angegeben. Die verwendeten Verbindungen können auch Aminosäuresequenzen der Enzyme oder Proteine enthalten, die für die Assoziation ihrer Untereinheiten oder Teilstrukturen oder die Stabilität oder strukturelle Anordnung der funktionierenden Enzyme und 35 Proteine mitverantwortlich sind, oder verwandte oder

- 1 ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste besitzen, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzyme oder Proteine beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität oder ihre 5 Funktion beeinträchtigen oder ihre Bildung verändern können. Hierbei können die verwendeten Verbindungen Aminosäuresequenzen oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste der HIV-Protease enthalten, die 10 für die Assoziation der Untereinheiten des Enzyms und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern 15 oder ihre Bildung verhindern können. Die verwendeten Verbindungen können vorzugsweise die Aminosäuresequenz Trp-Lys-Pro-Lys-Met-Ile-Gly-Gly-Ile-Gly-Gly-Phe-Ile-Lys-Val-Arg; Gln-Ile-Leu-Ile-Glu-Cys: Val-Gly-Pro-Thr-Pro-Val-Asn; Ile-Gly-Arg-Asn; 20 Ala-Gly-Arg-Asn-Leu-Leu-Thr-Gln-Ile oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste oder Teile daraus enthalten, die für die Assoziation der Untereinheiten der HIV-Protease und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden 25 Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern oder ihre Bildung verhindern können.
- Auf diese Weise kann also Struktur und/oder die Wirkung von Enzymen, die eine gewisse Symmetrie haben, indem sie aus gleichen oder ungleichen Untereinheiten bestehen, insbesondere von Enzymen von pathogenen Bakterien oder Viren

1	oder von körpereigenen Enzymen in pathologischen zuständen, durch stabile organisch-chemische Verbindungen gehemmt
	werden, was zur Therapie dienen kann, wenn die verwendeten
5	Verbindungen Aminosäuresequenzen der strukturell unsymmetrischen komplexen Zielenzyme oder verwandte oder
	ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche
	organisch-chemische Reste enthalten, die für die Assoziation
	der Untereinheiten der Enzyme und die Bildung und den
10	Zusammenhang der funktionierenden Enzymkomplexe
10	mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Bildung
	oder den Zusammenhalt oder die Stabilität der Enzymkomplexe
	stören und ihre Aktivität beeinträchtigen oder verhindern
	können.

1		1						1				
5	m/m1)	12	165540	142240	142240 117910	163130	137470	149020	125290	164920	92020	106830
15	Transkriptase Determination (epm/ml)	6	18921	1550	12517	9502	14455	5503	6575	7187	8474	6180
. 20	Transkriptas	8	23708	1717	5381	7460	6914	3159	4418	4188	3006	3091
25	Reverse		23708	7		74		31	44	41	30	30
30		7	12401	1529 5370	4615	4041	3929	3441	4033	4614	6105	2099
35		Day post infection	HIV Control 1	A 1000 km	10 um		0,1 µM	В 1000 µМ	100 µM	10 µM	1 µM	0,1 µМ

ERSATZBLATT

5 .	ibitor 12	165540	107640 96780 158800	164240	1533 210720 213750 139610
10	no inhibitor	18921 13680	5343 8860 8823	4186 7477	3022 2914 2227 2304
15		188	13, 88, 88	7.	36 25 23 23
20		08	08 70 98	98 14	53 11 14
25	- ω	23708	4308 6370 4398	3198	2663 5411 2058 3844
		12401	7646 3838 5358	4575 5561	4393 4112 6777 5550
30	Infection	51 1 51 2			- Not testod
35	Day post infection	HIV Control	С 1000 µМ 100 µМ 10 µМ	1 µM 0,1 µM	D 1000 цМ 100 цМ 10 цМ 1 цМ 0,1 цМ

ERSATZBLAT

129790 129730

9999

5958 8069

5194

4859

3874

3925

9092

2955

4854

5959

3328

0,1 µM

4279

164570 122840 93946

1							
5	tor 12	165540	151010	97040	153830	201520	149330
10	no inhibitor					~	_
15	ou 6	18921	9748	10344	4340	6595	2994
20		8	0	6	5	3	2
25		23708	5760	3709	5825	1663	982
		!					

12401 4183

HIV Control

Day post infection

3099

4537

3344

Ē

16 1000

100 µM

F F

10

3155

5487

Ę

0,1

replication as measured by total antigen production or by reverse transcriptase measurement of released virus. This effect was reversible as virus production quickly returned to control levels after removal of inhibitor from infected Conclusion: All substances tested showed a significant inhibitory effect on HIV-1 cells

ERSATZBLATT

17 1000 µM

100 µM

H

10

30

Results: HIV-1 antigen production as measured in antigen capture ELISA, values

;;	12	1,017	1,054 1,013 1,003 1,065 1,065	1,050 0,960 1,038 0,970 1,047	1,000 0,940 1,040 1,042 1,010
no inhibitor	6	1,052	0,899 0,915 0,727 0,694 0,737	0,811 0,890 0,645 0,745	1,019 0,787 0,643 0,808
	80	0,748	0,597 0,374 0,499 0,394 0,478	0,577 0,260 0,342 0,237	0,778 0,296 0,292 0,239 0,336
	7	0,811	0,286 0,361 0,256 0,213 0,363	0,279 0,359 0,186 0,186	0,415 0,265 0,228 0,267 0,276
	9	0,182	0,102 0,070 0,140 0,136 0,181	0,075 0,099 0,087 0,105 0,149	0,100 0,100 0,133 0,105
	S	0,080	0,056 0,057 0,064 0,053 0,058	0,063 0,052 0,055 0,055	0,061 0,061 0,049 0,051
	4	0,059	0,054 0,053 0,044 0,057 0,055	0,050 0,052 0,047 0,050 0,063	0,057 0,053 0,064 0,050
readings.	ж	0,068	0,073 0,065 0,069 0,075 0,062	0,050 0,063 0,059 0,061	0,061 0,062 0,066 0,060
9 cëlls re	2	0,059	0,058 0,064 0,075 0,060 0,066	0,068 0,070 0,060 0,060	0,053 0,056 0,048 0,054 0,069
р. н 9 с	1	0,075	0,087 0,068 0,061 0,064 0,060	0,076 0,068 0,063 0,063	0,071 0,064 0,069 0,061
are o.	Day post infection	HIV Control 1 HIV Control 2	A 1000 µM 100 µM 10 µM 1 µM 0,1 µM	В 1000 µМ 100 µМ 10 µМ 1 µМ 0,1 µМ	С 1000 µм 100 µм 10 µм 1 µм 0,1 µм

ERSATZBLATT

1								ŀ				[ļ					
5	ibitor 12	77		0,278	0,975	1,031	966'0	0,975	1,050	1,059	1,028	1,002	1,002	1,060	1,001	1,020	1,066	
3	no inhibitor	6		0,412	988'0	0,854	906'0	0,905	0,626	0,738	0,807	0,870	686'0	0,924	1	0,891	0,984	
10	α	0		0,369	0,368	0,465	0,366	0,379	0,268	0,308	0,464	0,525	0,584	0,547	0,439	0,367	0,434	
	_	,		0,175	0,218	0,244	0,380	0,354	0,258	0,308	0,458	0,266	0,397	0,407	0,336	0,354	0,464	-
15	<u></u>	D		0,079	0,081	0,108	0,134	980'0	0,084	0,107	0,124	0,115	0,094	0,100	0,127	0,149	0,121	
20	ır	C		0,059	0,059	0,053	0,057	0,065	0,062	0,058	0,059	0,053	0,049	0,056	0,059	0,058	0,050	_
20	4	7		090'0	090'0	0,044	0,054	0,051	0,052	0,050	0,055	0,043	0,048	0,056	0,061	0,051	0,046	
25	~	c		0,064	0,072	0,055	0,051	0,062	0,058	0,064	690'0	0,045	0,042	690'0	0,062	0,068	0,063	
	_	7		0,032	990'0	0,057	0,055	0,055	6,063	990'0	950'0	0,064	0,063	0,059	0,026	0,061	0,057	
30	-	7		0,067	890'0	0,064	0,057	0,076	0,065	0,065	990'0	0,058	0,065	0,064	90,0	0,067	090'0	
35	Day work infortion	Day post infection	D 1000 µM - not testad	100 дм	10 pM	J pM	0,1 µM	₩1 0001 91	100 гм	10 µM	I IM	0,1 µM	17 1000 µM		10 µM	1 µM	0,1 µM	

ERSATZBLATT

· 3 (&)

1 Patentansprüche

- 1. Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere Enzymen, insbesondere zur Inhibierung der HIV-Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren, dadurch gekennzeichnet, daß diese Enzyminhibitoren solche sind, deren Molekül in bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell gleich-symmetrisch oder teilweise ober annähernd, jedoch zur Hemmung hinreichend, symmetrisch ist.
- 2. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Inhibitoren organisch-chemische Verbindungen, insbesondere Peptide sind oder peptidähnliche Strüktur haben und eine zentrale organisch-chemische Gruppe Maufweisen, an die als Seitenketten organische Reste gebunden sind, insbesondere Aminosäuren oder Aminosäurenderivate, Monosaccharide oder deren Derivate oder Fettsäurereste oder ihre Derivate, insbesondere Peptide, die jeweils gleich oder annähernd gleich und in bezug auf die Gruppe M symmetrisch oder annähernd symmetrisch sind.
- 3. Mittel nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß für die Hemmung von Proteinasen die Hemmverbindungen anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen.
- 4. Mittel nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Hemmverbindungen bei sonst sehr substratähnlicher Struktur anstelle der spaltbaren -CONH-Peptidbindung eine nicht oder schwerspaltbare -NHCO-Bindung (also mit umgekehrter Richtung) besitzen.

\$

1 5. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Hemmverbindungen zentrale organisch-chemische Gruppen besitzen, die zwei identische oder in ihrer Funktion 5 äquivalente organische Substituenten aufweisen, die mit zwei identischen oder teilweise identischen Peptiden oder peptidähnlichen Verbindungen oder Fettsäuren bis C_{12} so reagieren können, daß eine symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.

10

6. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in den Hemmverbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei ungleichen Substituenten zwei gleiche 15 oder annähernd gleiche oder sich entsprechende Peptide oder peptidähnliche Verbindungen so gebunden sind, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.

- 7. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in den verwendeten Hemmverbindungen ein Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer räumlichen Konfiguration besteht, 25 während die andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration besteht, so daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung vorliegt.
- 30
- 8. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die verwendeten Hemmverbindungen im Falle der HIV-Protease die Aminosäuresequenz Asp-Thr-Gly oder Asp-Ser-Gly oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder 35 strukturell ähnliche organisch-chemische Reste

- enthalten, die im Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrum aus gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung des aktiven Enzyms verhindern können.
- 9. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden 10 Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die verwendeten Hemmverbindungen im Falle der HIV-Protease die Aminosäuresequenzen Ile-Gly-Arg-Asn, Trp-Lys-Pro-Lys-Met-Ile-Gly-Gly-Ile-Gly-Gly-Phe-Ile-Lys-Val-Arg; Gln-Ile-Leu-Ile-Glu-Cys; 15 Val-Gly-Pro-Thr-Pro-Val-Asn; Ile-Gly-Arg-Asn; Ala-Gly-Arg-Asn-Leu-Leu-Thr-Gln-Ile oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste enthalten, die im Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrums aus 20 gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung des aktiven Enzyms 25 verhindern können.

30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

I. CLASSIFICATI N. E. CUDITOR	International Application No PCT/I	EP 90/00219 `
I. CLASSIFICATI N F SUBJECT MATTER (if several cla	ssification symbols apply, indicate all) *	
According to International Patent Classification (IPC) or to both N		
Int.Cl. A 61 K 37/64, C 07 K 5/02	. 7/02	
II. FIELDS SEARCHED		1 44 20 1
Minimum Docum	nentation Searched 7	
Classification System	Classification Symbols	
	Ciddanication Symbols	25.0
Int.Cl. ⁵ A 61 K, C 07 K		
Documentation Searched othe to the Extent that such Documen	r than Minimum Documentation its are included in the Fields Searched •	
		<u> </u>
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category • Citation of Document, 11 with indication, where ap	propriate, of the relevant passages 12	Relevant to Claim No. 13
A The Journal of Biological Cher		1.0
iio. 34, 3 becember 1988		1-9
(Baltimore, MD, US)		
S. Billich et al.: "Synthetic :	oeptides	
as substrates and inhibitors	of .	
human immune deficiency virus	-l protease"	
bages 1/302-1/308	•	
(cited in the application)		
Biochemistry volume 26 No 26		
	3, 8 September	11-9
1907 (Edston, PA, US)		
T.L. Blundell et al.: "On the ra	ational	
design of renin inhibitors: X	-ray studies of	
aspartic proteinases complexed	l with	
transition-state analogues", pages 5585-5590	• •	
F-2-2 2202-2200		
P,X FEBS Letters, volume 247, No 1	3mmil 3000	
(Amsterdam, NL)	., April 1989 ,	1-3
I.V. Pechik et al.: "Possible r	colo of	
groups in the structure and fu	ore or some	<u>.</u>
HIV-I protease as revealed by	mojecnje.	!
"Coefing studies".		
pages 118-122, see page 121, r	ight hand column	
Special categories of cited documents: 10		
'A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the or priority date and not in conflict cited to understand the priority.	
"E" earlier document but published on or after the international	invention	or theory andenying the
······g 6610	"X" document of particular relevance cannot be considered hovel or	the claimed invention
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	are an inventive stab	A 400
'O" document referring to an oral disclosure, use exhibition as	"Y" document of particular relevance; cannot be considered to involve an	
	ments, such combination being obv	
P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	in the art. "&" document member of the same pat	
V. CERTIFICATION	the same par	ent family
Pate of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of the	
9 May 1990 (09.05.90)	Date of Mailing of this International Sec 14 June 1990 (14.06.90	
nternational Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
European Patent Office	O Service of Services Officer	
PCT/ISA/210 (second sheet) (January 1985)	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	<u></u>

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 1985)

International Application No. PCT/EP 90/00219

	MENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SH	
ategory *	Citation of Document, with Indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No
	line 27 - page 122, left hand column	
1		
	·	
0		
		-
	·	
	·	
	1	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internati nales Aktenzeichen PCT/EP 90/00219

I. KLA	SSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (be	
Nact	der Internationalen Patentklassifikasion (IRC) -des auch de	menreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)
	der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach de	r nationalen Klassifikation und der IPC
Int.C	CI ⁵ A 61 K 37/64, C 07 K 5/02,	7/02
		1704
II. REC	HERCHIERTE SACHGEBIETE	
L	Recharchierter	Mindestprüfstoff ⁷
Klassifik	ationssystem	Klassifikationssymbole
Int.C	15 361 % 0.07 %	
1	A 61 K, C 07 K	
1	Hecherchierte nicht zum Mindestprüfstoff	gehörende Veröffentlichungen, soweit diese
ļ	unter die recherchier	ten Sachgebiete fallen ⁸
ł		
1		.: .
III. EINS	CHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN9	
Art*		
	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ ,soweit erforderli	
A	The Journal of Biological Cl	nemistry, Band 263, 1-9
	Nr. 34, 5. Dezember 1988	3
	(Baltimore, MD, US)	
	S Billigh of all allowed	
	S. Billich et al.: "Synt	netic peptides
1	as substrates and inhib	ltors of
1	human immune deficiency	virus-1 protease"
	Seiten 17905-17908	
	(In der Anmeldung erwähnt)	
1		•
A	Biochemistry, Band 26, Nr.	18 8 Sentember 1-0
	1987 (Easton, PA, US)	10, 0. September
	T T Plundoll of all a	
1	T.L. Blundell et al.: "(on the rational
1 .	design of renin inhibito	ors: X-ray studies of
1 .	aspartic proteinases com	aplexed with
	transition-state analogu	ies".
1 1	Seiten 5585-5590	
ł		
P,X	FEBS Letters, Band 247, Nr.	1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2
- /	(Amsterdam, NL)	1, April 1989, 1,3
1 1		
[[I.V. Pechik et al.: "Pos	sible role of some
	10	
"A" Ver	lere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen 10 : öffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik	
defi	niert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist	"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen An-
"E" älte	res Dokument, das jedoch erst am oder nach dem interna-	meldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum
tion	alen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist	Verständnis des der Erfindung zugrundellegenden Prinzins
"L" Ver	öffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch	oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
_ 2W6	itelnatt erscheinen zu lassen, oder durch die das Veräf.	"X" Veröffentilichung von besonderer Bedeutung; die beanspruch-
tent	lichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht ge-	te Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätig- keit beruhend betrachtet werden
and	nten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem eren besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)	
"0" Ver	öffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung,	"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruch- te Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit be-
į eine	Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen	ruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit
Dezi	ent	einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kate-
"P" Ven	öffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldeda-	gorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist.
tum	, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffent-	
lich	t worden ist	"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Petentfamilie ist
IV. BESC	HEINIGUNG	
	n des Abschlusses der internationalen Recherche	
		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
٦.	Mai 1990	
ļ		4 6 06 90
Interr	etionale Recherchenbehörde	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten
	Europäisches Patentamt	C. D. v. d. VLIET

	SCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)	
Art *	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
	groups in the structure and function of HIV-1 protease as revealed by molecular modeling studies", Seiten 118-122, siehe Seite 121, rechte Spalte, Zeile 27 - Seite 122, linke Spalte, Zeile 7	
	•	
		•
	·	1. 1. 1.

THIS PAGE BLANK (USPTO)